新型 H3N3 亚型禽流感病毒对鸡致病性与传播性研究

孙洪磊[1#] 佟 琪[1#] 余海莉[1#] 韩琪祺[1] 李 涵[1] 常昊宇[1] 屈亚锦[1] 徐杰[2] 刘思当[2] 刘金华[1]*

（1 中国农业大学 动物医学学院，北京 100193）

（2 山东农业大学 动物科技学院，泰安 271018）

摘 要 新型禽流感病毒对家禽养殖业可造成严重经济损失，及时发现和阻断其传播具有重要意义。2022-2023 年，本实验室在我国华东、华北地区发病鸡群中监测到新型 H3N3 亚型禽流感病毒的出现和传播。本研究对发病鸡群开展了临床发病情况调查，对分离病毒进行了全基因组演化分析，并对分离的代表性病毒进行了鸡致病性以及空气传播性实验。结果表明：1）H3N3 最早于 2022 年 12 月在华东地区发生产蛋下降的蛋鸡群出现，随后陆续在华东、华北、东北等多个地区的鸡群中监测到，发病群体主要为产蛋鸡，鸡群发病率高，死亡率低（1%-5%），主要引起产蛋率急性下降（10%-40%）；2）病毒全基因组序列分析显示：H3N3 病毒为新型重排病毒，由鸡群中流行的 H3N8 病毒与 H10N3 病毒重排产生，6 个内部基因来源于 H9N2 病毒；3）与 H3N8 病毒类似，新型 H3N3 病毒对鸡高度易感，可在鸡呼吸系统高效复制、排毒，引起呼吸系统严重病理损伤；4）空气传播性实验表明，H3N8 病毒不能在鸡之间有效空气传播，而新型 H3N3 病毒能够在鸡之间有效空气传播。综上，新型 H3N3 禽流感病毒对鸡具有较强的致病性、传播性，有可能成为新的优势流行病毒，对我国家禽养殖业威胁较大，需要开展其防控研究。

关键词 H3N3 禽流感病毒 鸡 致病性 传播性

Pathogenicity and airborne transmissibility of novel reassortant H3N3 avian influenza A virus in chickens

SUN Honglei[1], TONG Qi[1], YU Haili[1], HAN Qiqi[1], LI Han[1], CHANG Haoyu[1], QU Yajin[1], XU Jie[2], LIU Sidang[2], LIU Jinhua[1]*

(1 College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193)

(2 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Taian 271018)

Abstract The novel avian influenza viruses (AIVs) can cause serious economic losses to the poultry industry. Systematic surveillance of novel AIVs in poultry is essential for control of avian influenza. In the present research, we isolated H3N3 subtypes AIVs from chicken farms reporting illness in China during 2022–2023. All of these chickens showed respiratory disease signs and a 10-40% reduction in egg production. We conducted epidemiological

基金项目：国家自然科学基金重大项目（32192450）
第一作者：孙洪磊，教授，主要从事动物传染病研究，E-mail: shlei668@163.com
佟琪，实验师，主要从事预防兽医学研究，E-mail: tongqi@cau.edu.cn
注：孙洪磊、佟琪、余海莉对本文具有同等贡献
通讯作者：刘金华，教授，主要从事动物传染病研究，E-mail: ljh@cau.edu.cn

surveys, virus isolation and identification, sequence analysis, and chicken infection experiments. The results showed that: 1) In December 2022, H3N3 AIVs was first found in a layer chicken flock in Eastern China, and the virus was transmitted to multiple Provinces with high density chicken populations in a short time. 2) Sequence analysis showed that the novel H3N3 AIVs were evolving as a triple reassortment event, which bears H3N8-derived HA gene, H10N3-derived NA gene and H9N2-derived internal genes. 3) The novel H3N3 AIVs were highly susceptible to SPF chickens. The virus replicated efficiently in the concha nasalis, trachea, lungs and Harders glands and infected chickens showed pathological damage. 4) H3N3 viruses were airborne transmission among chickens, whereas H3N8 viruses were not. In conclusion, the novel reassortment H3N3 virus showed pathogenicity and airborne transmissibility in chickens. Therefore, comprehensive surveillance of H3N3 AIVs in domestic poultry is imperative and control of the virus endemic is needed.

Keywords H3N3; Avian Influenza Virus; Chicken; Pathogenicity; Airborne Transmissibility

引言：

禽流感病毒（Avian Influenza Virus, AIV）属于正粘病毒科 A 型流感病毒属，病毒基因组由 8 个单股负链 RNA 片段组成。当两种流感病毒共感染同一个宿主细胞时，可能发生病毒基因片段的交换，又称为基因重排，而产生出新亚型或新基因型病毒，新型流感病毒对养禽业或人健康可能造成严重威胁，因此，及时发现新型流感病毒具有重要意义。

H9N2 亚型 AIV 是鸡群中最常见的病毒，具有多个进化谱系，其中 BJ/94 谱系 H9N2 病毒是我国鸡群中优势流行的病毒谱系[1,2]。2010 年之后，BJ/94 谱系的 G57 基因型 H9N2 病毒在我国鸡群中形成优势流行[3]，该基因型病毒不仅对鸡致病性增强，更为重要的是其可以作为基因供体为其他亚型流感病毒提供内部基因，产生出 H7N9、H10N3、H10N8、H5N6 等多种新型病毒[4]。2022 年，我国鸡群中出现新型 H3N8 AIV，这种病毒是由水禽源 H3 基因、北美野鸟源 N8 基因以及 H9N2 病毒内部基因三源重排形成[5]。该新型病毒对可在鸡呼吸系统高水平复制，造成严重的病理损伤，并且由于鸡群普遍缺乏针对 H3 亚型 AIV 的特异性抗体，这种新型病毒迅速在我国鸡群中流行扩散[6-9]，对养鸡业造成了较大的经济损失。不同亚型低致病性 AIV 在我国鸡群中的共流行，有可能进一步发生基因重排而产生新型病毒，所以，开展我国鸡群 AIV 的病原学监测是科学防控禽流感的重要环节。

多年来，本实验室高度关注新型流感病毒的产生与流行演化。临床调查发现，自 2022 年 12 月，在我国华东、华北、东北等地区发生产蛋下降的鸡群中检测出新型 H3N3 亚型 AIV，经病毒全基因序列分析显示，该病毒为 H3N8 病毒与 H10N3 病毒重排产生。为揭示新型 H3N3 病毒对鸡致病性与传播性特征，本研究将分离毒株进行了 SPF 鸡回归实验，并评价了病毒在 SPF 鸡之间的空气传播性，以期为该病的科学防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 病毒分离与鉴定

1.1.1 病料采集与处理

2022-2023 年对我国家禽养殖大省家禽养殖场开展 AIV 监测。对临床表现呼吸道症状、产蛋下降等典型流感发病特征的发病鸡采集口咽拭子，死亡鸡剖检取气管、肺脏等组织样品，置于含 1 mL 无菌 PBS（含抗生素）的离心管中，低温运送至中国农业大学农业农村部禽流感等家禽重大疾病防控重点实验室进行病毒分离与鉴定。

1.1.2 病原核酸鉴定

取口咽拭子重悬液或组织样品研磨液 200 μL，RNA 提取试剂盒提取核酸，实时荧光定量 RT-PCR 方法分别检测 A 型流感病毒、新城疫病毒（NDV）、传染性支气管炎病毒（IBV）。

1.1.3 禽流感病毒分离鉴定

实时荧光定量 RT-PCR 检测流感病毒核酸阳性样品接种 9 日龄 SPF 鸡胚，35℃孵育 48 小时，4°C过夜收取尿囊液，通过血凝（HA）和血凝抑制（HI）试验检测流感病毒的 HA 亚型；提取尿囊液 RNA，以流感病毒通用引物 unit12 反转录为 cDNA，霍夫曼引物进行病毒全基因组测序[10]。

1.1.4 基因遗传进化分析

将毒株全基因序列在 GISAID 数据库进行 Blast 序列比对，将各基因片段参考相关序列，使用 FastTree 2.1.11 软件绘制最大似然法基因进化树，Shimodaira-Hasegawa (SH)方法计算分支支持值，设置 1000 次重复。

1.2 家禽致病性、传播性实验

1.2.1 实验设计

SPF 鸡致病性实验：每组 4 周龄 SPF 鸡 8 只，将病毒以 10^6 EID_{50} 剂量滴鼻感染，每日观察临床症状。感染后 4 天剖检 3 只接种鸡，观察病理变化，取脏器进行病理组织学检测和病毒滴度测定。感染鸡于接种后 1-14 天每天采集口咽拭子、泄殖腔拭子，进行病毒滴度测定。第 14 天采集鸡血，HI 试验检测血清转阳情况。

SPF 鸡空气传播性实验：每组 4 周龄 SPF 鸡 10 只，将病毒以 10^6 EID_{50} 的剂量滴鼻感染 5 只鸡，24 小时后将 5 只鸡放入隔壁笼饲养，两笼间隔 30cm，空气气流由攻毒组鸡向空气传播组鸡方向流动。每日观察临床症状，攻毒组、空气传播组鸡于接种后 1-16 天每天采集口咽拭子、泄殖腔拭子，进行病毒滴度测定。第 21 天采集鸡血，HI 试验检测血清转阳情况。

1.2.2 组织病理切片及免疫组化

取鼻甲、气管、肺脏等组织置于 4%多聚甲醛溶液中固定，制作石蜡切片，进行 HE 染色、免疫组化染色。免疫组化一抗为 A 型流感病毒 NP 抗体。

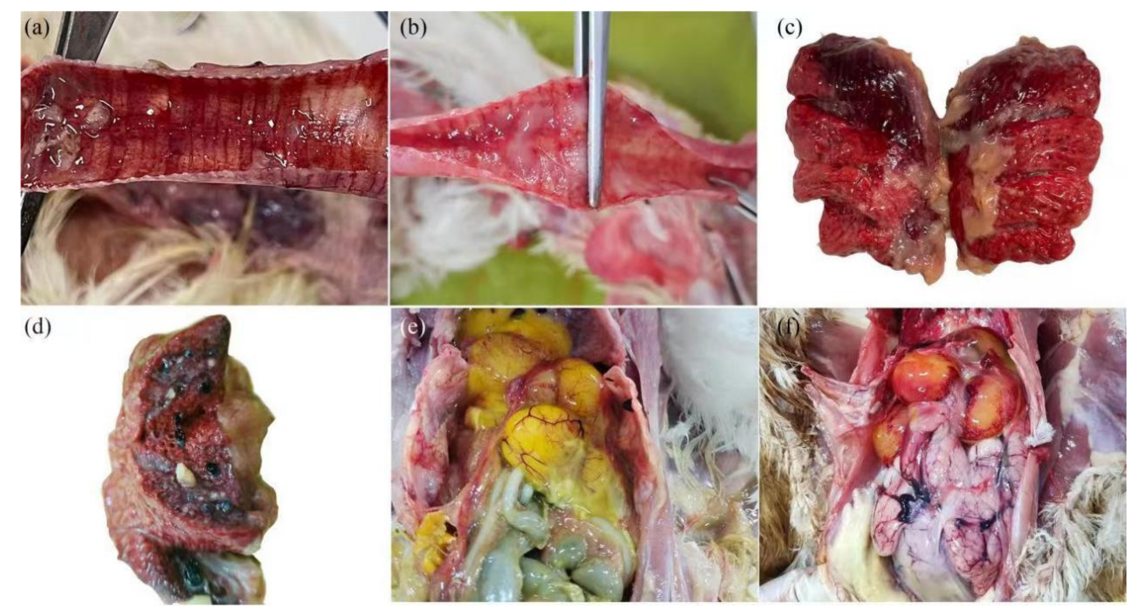
1.2.3 病毒载量测定

口咽拭子、泄殖腔拭子加入 1 mL 含抗生素的无菌 PBS，涡旋振荡后低速离心，取上清液进行 10 倍梯度稀释备用。取鼻甲、气管、肺脏、肝脏、脾脏、肾脏、脑、十二指肠、胸腺、法氏囊和哈德氏腺，按照 0.1g/mL 加入无菌 PBS（含抗生素），组织匀浆机中充分研磨，低速离心，取上清液进行 10 倍梯度倍比稀释，将样品以 0.2 mL/胚接种 10 日龄 SPF 鸡胚，每个稀释度接种 3 枚鸡胚，接种后于 35℃孵育 48 小时，4℃过夜后收取鸡胚尿囊液测定血凝效价，按 Reed-Muench 法计算病毒滴度。

2 结果与分析

2.1 临床发病与病毒流行情况

自 2022 年 12 月，陆续在我国华东、华北、东北等地区商品蛋鸡、肉种鸡、蛋种鸡等产蛋鸡群发生以呼吸道症状、产蛋急性下降为典型发病特征的传染性疾病。该病传播迅速，同一养殖场内不同栋舍鸡群一周以内均可出现发病。鸡群发病率高，死亡率低，约死亡 1%-5%，主要引起产蛋率急性下降。发病鸡典型症状为眼结膜肿胀、张口呼吸，有呼吸啰音，产蛋率一周内急剧下降 10%-40%，蛋壳质量差。剖检可见眼睑肿胀出血，鼻腔内有大量脓性分泌物，口腔黏膜潮红，腭裂内有大量黏液，气管弥漫性出血(图 1（a）)，黏膜层附着大量黏液（图 1（b）），肺脏淤血实变（图 1（c））、细支气管内有黄色纤维素性渗出(图 1（d）)，卵泡充血、出血、液化、破裂，形成卵黄性腹膜炎（图 1（e）（f）），输卵管黏膜充血，有分泌物渗出。病程持续时间超过 1 月，产蛋率恢复较慢，后期死淘比例与饲养管理及控制继发感染密切相关。



(a) 气管弥漫性出血；(b) 气管黏膜层附着大量黏液；(c) 肺脏淤血、实变；(d) 黄色干酪样渗出物堵塞细支气管；(e)(f) 卵泡充血、液化变形

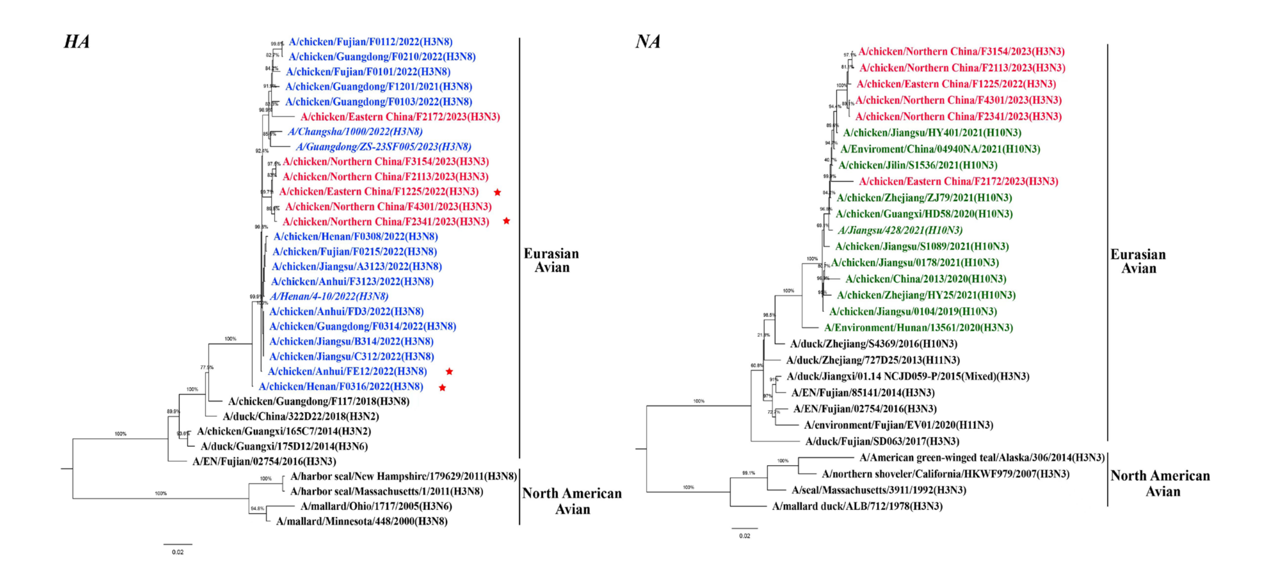
(a) Trachea mucosas membrane bleeding; (b) Mucus in tracheal; (c) Pulmonary congestion; (d) Bronchioles blocked by exudate; (e) (f) Follicles congestion and rupture

图 1. 临床发病鸡典型表现及剖检病变

Fig.1 Typical clinical and pathological changes of diseased chickens

2.2 新型 H3N3 病毒分离鉴定及基因遗传进化分析

H3N3 亚型病毒最早检出时间为 2022 年 12 月，在华东地区发生产蛋下降的商品蛋鸡群中检出，随后陆续在华北、东北等多个地区发病蛋鸡检测出。根据病毒分离时间、地点，选择代表性毒株进行全基因测序，基因进化分析结果显示：H3N3 病毒的 HA 基因属于欧亚禽分支，与 2022 年我国鸡群中流行的 H3N8 病毒处于同一进化分支，与同分支 H3N8 病毒基因相似性为 96.9%-99.3%（图 2）；N3 属于欧亚禽分支，与我国华东地区鸡群中流行的 H10N3 病毒处于同一进化分支，与同分支 H10N3 病毒基因相似性为 96.9%-99.0%（图 2）。测序毒株的 6 个内部基因均来源于我国鸡群中流行的 G57 基因型 H9N2 亚型病毒。所有 H3N3 病毒的 HA 裂解位点均为 PEKQTR/GLF，无多碱性裂解位点插入。上述研究表明，新型 H3N8 病毒在鸡群中流行的过程中与 H10N3 病毒发生重排，产生出新的 H3N3 亚型病毒。



本研究测序毒株标记为红色，H3N8 病毒标记为蓝色，H10N3 病毒标记为绿色，用于鸡致病性和传播性实验的毒株标记星号

The H3N3 viruses isolated in the present study are indicated in red. H3N8 viruses are indicated in blue. H10N3 viruses are indicated in green. The viruses used in chicken experiment are marked with asterisk.

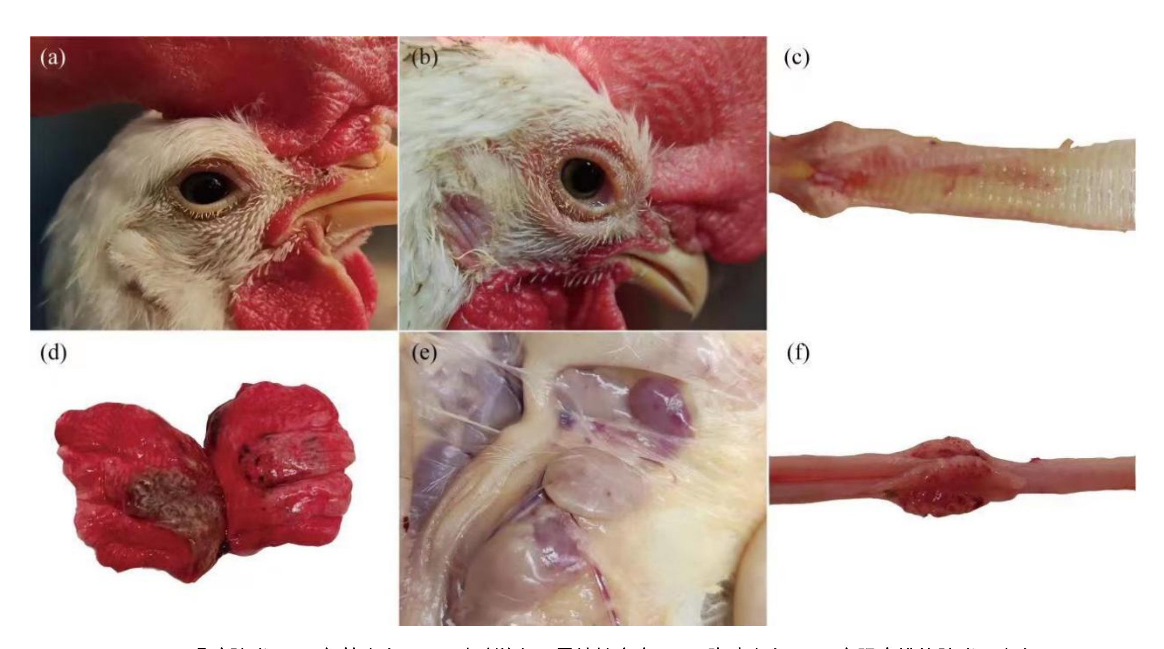
图 2. H3N3 亚型禽流感病毒 HA、NA 基因进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of H3N3 AIVs

2.3 新型 H3N3 病毒对 SPF 鸡致病性

鉴于 NA 蛋白在病毒感染、出芽释放以及传播过程中均发挥重要作用，因此，有必要评价新型 H3N3 病毒对家禽致病、传播性的变化。本研究选择 A/chicken/Eastern China/F1225/2022（EC/F1225）、A/chicken/Northern China/F2341/2023（NC/F2341）两株 H3N3 病毒进行 SPF 鸡致病性实验。结果显示：在 14 天实验期内两株 H3N3 病毒感染鸡均未出现死亡，表明 H3N3 病毒为低致病性 AIV。但两株病毒感染鸡均表现出明显的发病症状，出现炸毛、缩颈、采食量下降等表现，部分鸡出现眼睛肿胀、流泪、出血病变（图 3（a）和（b））。攻毒后 4 天，每组取 3 只感染鸡进行剖检，可见鸡眼结膜红肿、哈德氏腺出血，鼻甲内有黏液渗出，气管黏膜潮红，有出血点及黏液分泌物（图 3（c）），肺脏淤血、出血，并有局灶性实变（图 3（d）），肾脏肿大，胸腺出血（图 3（e））、盲肠扁桃体肿胀出血（图 3（f））。病理组织学观察可见眼结膜上皮细胞坏死脱落，黏膜下层血管充血，大量炎性细胞浸润；鼻甲黏膜上皮细胞脱落，黏膜下层淋巴小结增生，大量炎性细胞浸润，毛细血管扩张充血（图 4（a））；气管黏膜上皮细胞纤毛坏死脱落，黏膜下层炎性细胞浸润，血管充血（图 4（c））；肺脏充血、出血，大量炎性细胞浸润，导致部分肺房实变（图 4（e））。免疫组化病原原位检测可见：鼻甲黏膜下层细胞（图 4（b）），气管纤毛上皮细胞（图 4（d）），肺脏终末细支气管上皮细胞（图 4（f））有大量流感病毒抗原阳性信号。

脏器病毒分布及载量检测结果显示（图 5），两株 H3N3 病毒均可在鸡的呼吸系统高效复制，其中鼻甲、气管中的病毒滴度显著高于肺脏中的病毒滴度，表明 H3N3 病毒更易在鸡的上呼吸道复制。此外，哈德氏腺、胸腺、脑等肺外脏器也可检测到病毒，说明 H3N3 病毒对鸡具有广泛的组织嗜性，可引起全身系统性感染。上述结果表明，新型 H3N3 病毒可在鸡呼吸系统高水平复制，引起鸡呼吸系统严重病理损伤。

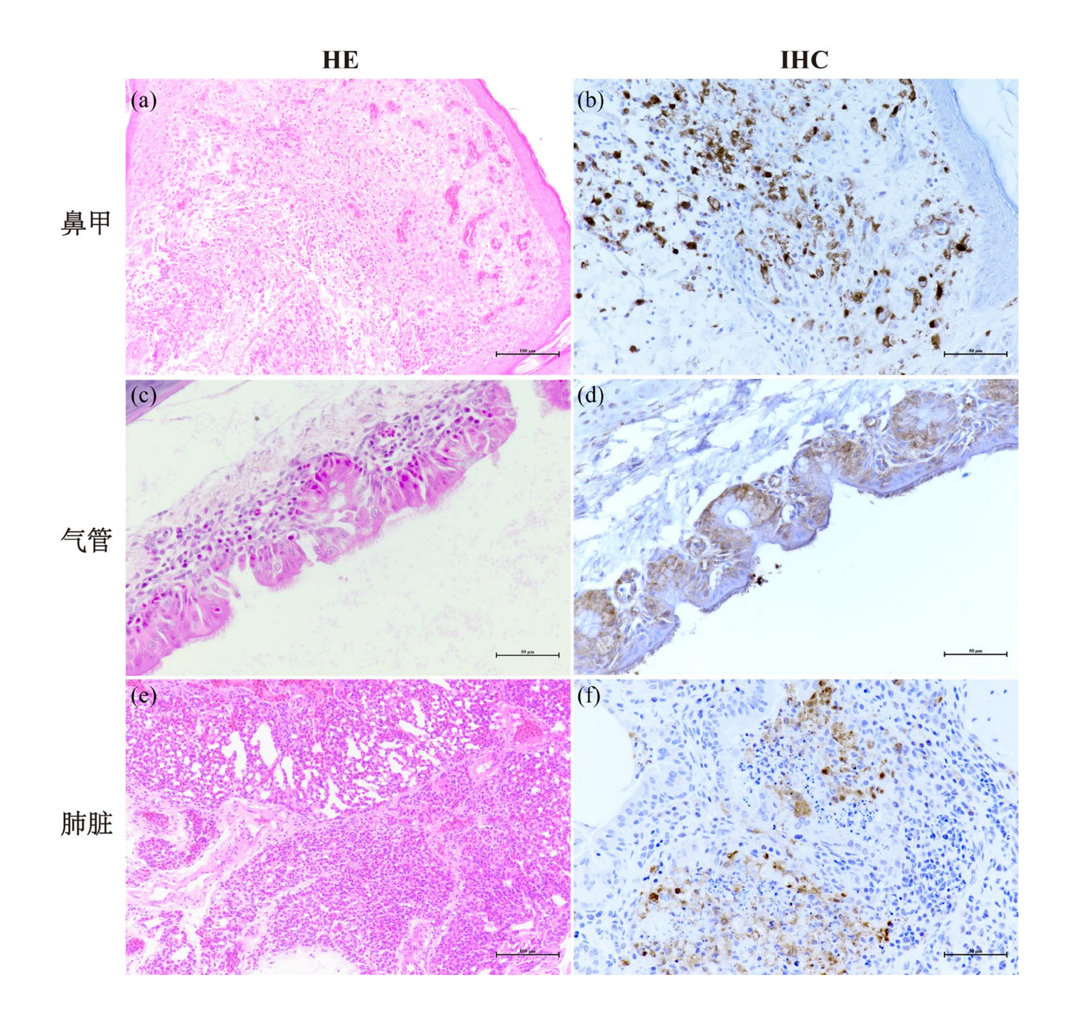


(a) (b) 眼睑肿胀；(c) 气管出血；(d) 肺脏淤血，局灶性实变；(e) 胸腺出血；(f) 盲肠扁桃体肿胀、出血

(a) (b) Eyelid swelling; (c) Trachea mucosas membrane bleeding; (d) Pulmonary congestion; (e) Thymic hemorrhage; (f) Cecal tonsil hemorrhage

图 3. H3N3 病毒感染 SPF 鸡典型临床表现及剖检病变

Fig.3 Gross lesions in SPF chickens inoculated with the H3N3 AIVs

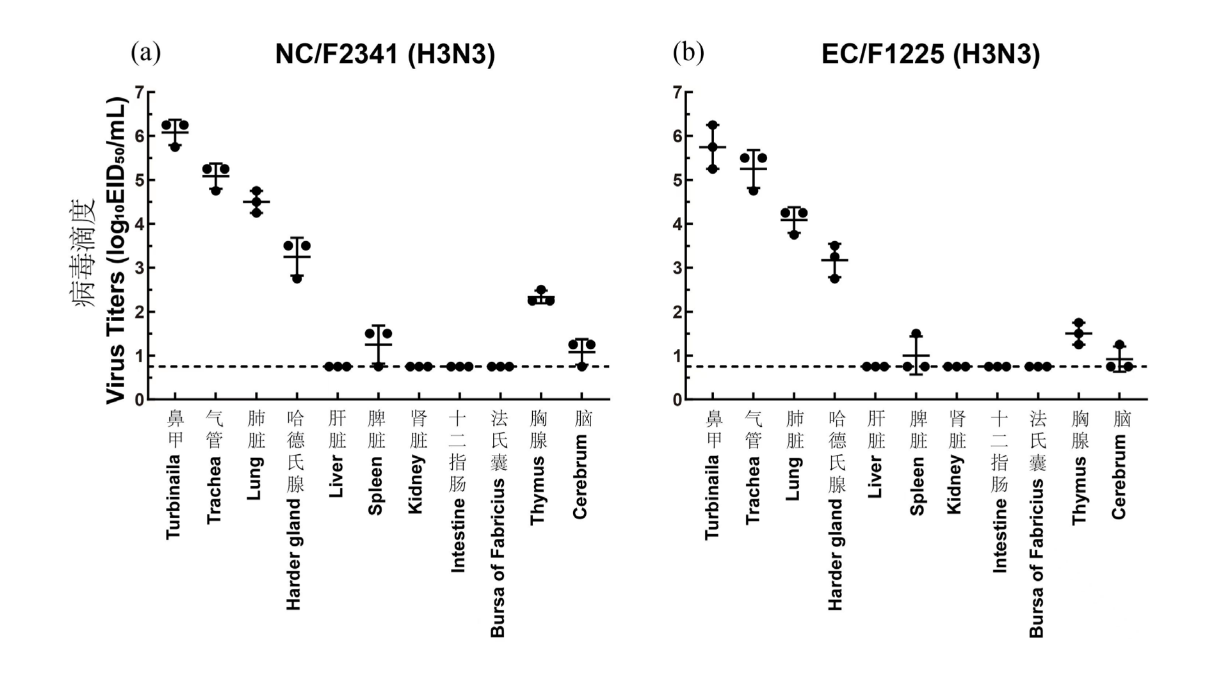


左侧为 HE 染色，右侧为流感病毒免疫组化染色. (a) 鼻甲黏膜下层炎性细胞浸润; (c) 气管上皮细胞坏死脱落; (e) 肺脏实变。(b) 鼻甲黏膜下层细胞阳性; (d) 气管上皮细胞阳性; (f) 肺脏终末细支气管上皮细胞阳性

Representative HE (Left) and immunohistochemical (IHC) (Right) stainings of tissuse sections at 4 dpi. (a) Infiltration of inflammatory cells in submucosa of turbinate;(c) Necrosis of tracheal epithelial cells; (e) Severe interstitial pneumonia and bronchopneumonia; (b) (d) (f) Extensive influenza viral NP distribution in the turbinate, tracheal and lung epithelial cells

图 4. H3N3 病毒感染 SPF 鸡引起的病理组织学变化

Fig.4 Histopathological changes of SPF chickens inoculated with the H3N3 AIVs



与 X 轴平行的虚线代表最低病毒检出量

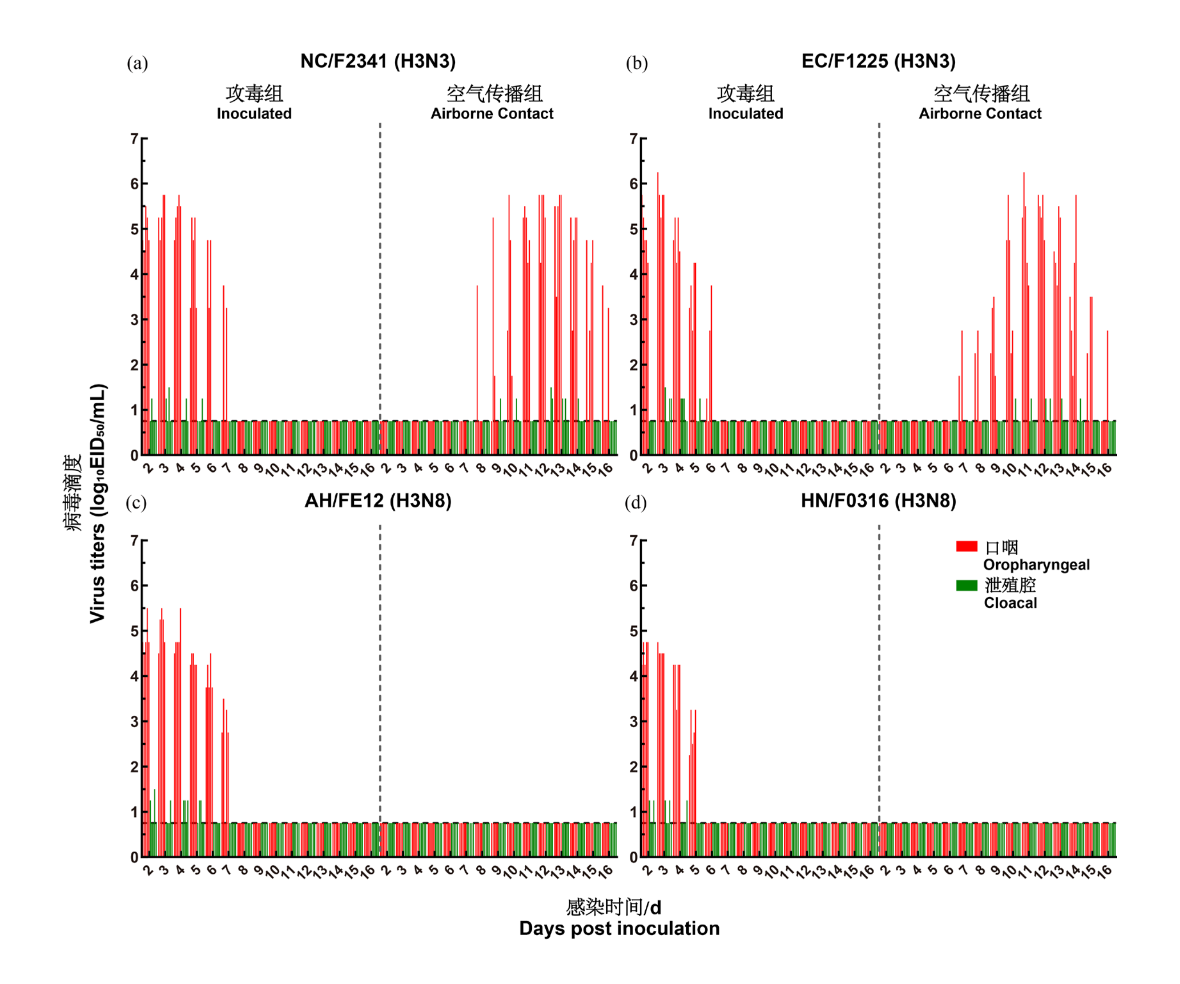
Dashed lines parallel to X axis indicate the lower limit of virus detection.

图 5. H3N3 病毒感染 SPF 鸡脏器病毒分布及载量

Fig.5 Virus titration of H3N3 AIVs in SPF chicken organs

2.5 新型 H3N3 病毒在 SPF 鸡之间的空气传播性

流感病毒具备在动物群体间的空气传播能力是其能够形成优势流行的关键因素。本研究评价了 H3N3 亚型 AIV 在鸡之间的空气传播能力，同时以两株 H3N8 病毒 A/chicken/Henan/F0316/2022（HN/F0316）、A/chcken/Anhui/FE12/2022（AH/FE12）作为对照。结果显示，两株 H3N8 病毒的攻毒组鸡口咽拭子、泄殖腔拭子中均检测到排毒，口咽的排毒量显著高于泄殖腔，排毒期最长为 7 天，排毒高峰在 2～5 天（图 6）。在 21 天的实验周期内，两株 H3N8 病毒的空气传播组鸡既未检出排毒也没有发生血清抗体转阳，表明 H3N8 病毒不能在鸡之间有效空气传播。两株 H3N3 病毒的攻毒组鸡口咽拭子、泄殖腔拭子中均检测到排毒，口咽的排毒量显著高于泄殖腔，排毒期最长为 7 天，排毒高峰在 2～5 天（图 6）。值得注意的是，H3N3 病毒 EC/F1225 在感染后 7 天开始发生空气传播，第 8 天，两株病毒空气传播组的鸡均出现排毒，排毒时间持续 6～8 天，HI 抗体检测结果显示两个空气传播组鸡均为 HI 抗体阳性。上述结果表明：H3N8、H3N3 病毒主要通过鸡口腔排毒，H3N3 病毒具备在鸡之间空气传播的能力，这可能导致其在鸡群中快速流行扩散。



与 X 轴平行的虚线代表最低病毒检出量，攻毒组与空气传播组鸡样品由与 Y 轴平行的虚线分隔。

Dashed lines parallel to X axis indicate the lower limit of virus detection, dashed lines parallel to Y axis separate inoculated and airborne contact groups of each virus.

图 6. H3N8、H3N3 病毒对鸡的感染性及空气传播性

Fig.6 Replication and airborne transmission of the H3N8 and H3N3 AIVs in SPF chickens

3 讨 论：

本研究通过对我国鸡群疫病监测，发现一种新型 H3N3 病毒，该病毒为我国鸡群中流行的 H3N8 病毒与 H10N3 病毒重排产生，内部基因来源于 H9N2 病毒。H3N3 病毒可在鸡呼吸系统高水平复制、排毒，引起呼吸系统病变，更为重要的是 H3N3 病毒具备在鸡之间空气传播的能力，这种传播能力的提升有可能促使 H3N3 病毒在鸡群中快速扩散，形成流行。

基因重排是产生新型流感病毒的重要方式，2022 年在我国发病鸡群中发现了新型 H3N8 流感病毒，这种新型 AIV 为水禽源 H3Ny 病毒、野鸟源 HxN8 病毒与 G57 基因型 H9N2 病毒三源重排组成[5]。由于携带了 H9N2 病毒的 6 个内部基因，H3N8 病毒可在鸡呼吸系统有效复制、排毒，并引起感染鸡临床发病[6]。自出现后，H3N8 病毒由南向北在鸡群中快速流

行散播，并与不同地区鸡群中流行的H9N2病毒内部基因动态重排，产生出多种基因型病毒[5,7-9]。本研究中我们检测到的H3N3病毒HA基因来源于H3N8病毒，NA基因来源于H10N3病毒，H10N3病毒主要在华东地区鸡群中地方性流行[11]，我们推测H3N8病毒在流行过程中与H10N3病毒在鸡宿主中发生共感染，重排产生出新型H3N3病毒。由于我国鸡群中存在H9N2、H10N3、H10N8、H7N9等多种亚型流感病毒流行，因此病毒之间相互重排产生出新基因型、新亚型病毒的几率很大，需要高度关注出现的新型病毒。

本研究中检测出的H3N3病毒多数来源于产蛋期蛋鸡，推测可能与产蛋鸡生理和体内激素水平变化导致对流感病毒易感性增加有关。致病性结果显示，虽然新型H3N3病毒不能致死SPF鸡，但病毒能够引起鼻甲、气管、肺脏、眼结膜严重的病理损伤，造成呼吸系统黏膜完整性的破坏。H3N3病毒感染产蛋鸡直接造成的组织损伤以及细菌、支原体等病原继发感染都会引起剧烈的炎症反应，出现体温急剧升高，造成卵泡充血、液化、破裂，最终形成卵黄性腹膜炎，不仅短时间内造成鸡群产蛋率急性下降，而且预后恢复时间长，造成较大的经济损失。应注意的是，H3N3病毒引起鸡群的发病表现与H9N2等低致病性AIV类似，尚需对临床上表现呼吸道症状的肉鸡、育成期蛋鸡持续监测，掌握H3N3病毒在不同品种鸡群中的流行、致病情况。

空气传播和直接接触传播是流感病毒的主要传播方式。流感病毒在野生水禽宿主间主要通过粪-口途径直接接触传播，不同亚型流感病毒在鸡群间的传播能力差异很大。H5Ny、H7N9亚型高致病性流感病毒虽然对鸡致病性强，但其主要通过直接接触传播，不能在鸡之间有效空气传播，因此扩散速度慢[12,13]。多数H9N2病毒可在鸡之间有效空气传播，这是其能够在鸡群中形成优势流行的重要原因。研究发现，HA-K363和PA-L672变异是决定H9N2病毒空气传播的关键因素[14]。本研究中我们发现，虽然H3N3、H3N8病毒都重组了H9N2病毒的内部基因，均具有PA-L672变异，但其NA基因的差异导致病毒的传播特性明显不同，H3N3病毒可在鸡之间发生空气传播，而H3N8病毒不能在鸡之间有效空气传播。NA蛋白具有神经氨酸活性，在病毒感染过程中可以切割呼吸道上皮细胞表面的黏蛋白和糖蛋白分子上的唾液酸，促进病毒感染；在病毒出芽释放过程中切割宿主细胞表面以及新生病毒粒子表面的唾液酸，促进病毒释放[15]。因此，NA蛋白对于流感病毒的致病性、传播性、跨种传播能力具有重要作用。相比于野鸟源的N8蛋白，鸡源N3蛋白显然更适应鸡宿主，不同亚型NA蛋白导致病毒传播性差异的分子机制尚需要深入研究。

总之，鉴于新型H3N3病毒对鸡具有较强的致病性和传播性，急需开展系统的病原学和血清学监测，掌握病毒的流行区域和感染宿主范围，研发快速诊断方法和疫苗，制定科学合

理的防控措施，及早将这种新型流感病毒控制在流行初期。

4 结 论

本研究发现新型 H3N3 流感病毒是由鸡群中流行的 H3N8 病毒与 H10N3 病毒重排产生，在我国鸡群中已形成流行趋势并主要引起蛋鸡临床发病。新型 H3N3 流感病毒可在鸡呼吸系统有效复制，造成严重的病理损伤，且病毒能够在鸡之间有效空气传播，有可能成为鸡群中新的优势流行病毒，对我国家禽养殖业威胁较大，需要开展其防控研究。

参 考 文 献 References

[1] Sun Y，Liu J. H9N2 influenza virus in China：a cause of concern[J]. *Protein Cell*，2015，6（1）：18-25

[2] Gu M, Xu L, Wang X, Liu X. Current situation of H9N2 subtype avian influenza in China[J]. *Vet Res*，2017，48（1）：49

[3] Pu J，Wang S，Yin Y，Zhang G，Carter RA，Wang J，Xu G，Sun H，Wang M，Wen C，Wei Y，Wang D，Zhu B，Lemmon G，Jiao Y，Duan S，Wang Q，Du Q，Sun M，Bao J，Sun Y，Zhao J，Zhang H，Wu G，Liu J，Webster RG. Evolution of the H9N2 influenza genotype that facilitated the genesis of the novel H7N9 virus[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*，2015，112（2）：548-53

[4] Liu WJ，Wu Y，Bi Y，Shi W，Wang D，Shi Y，Gao GF. Emerging HxNy Influenza A Viruses[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*，2022，12（2）：a038406

[5] Yang R，Sun H，Gao F，Luo K，Huang Z，Tong Q，Song H，Han Q，Liu J，Lan Y，Qi J，Li H，Chen S，Xu M，Qiu J，Zeng G，Zhang X，Huang C，Pei R，Zhan Z，Ye B，Guo Y，Zhou Y，Ye W，Yao D，Ren M，Li B，Yang J，Wang Y，Pu J，Sun Y，Shi Y，Liu WJ，Ou X，Gao GF，Gao L，Liu J. Human infection of avian influenza A H3N8 virus and the viral origins: a descriptive study[J]. *Lancet Microbe*，2022，3（11）：e824-e834

[6] 孙洪磊，佟琪，李涵，韩琪祺，刘激雨，李佳琪，杨吉喆，刘金华. 新型 H3N8 亚型禽流感病毒分离鉴定与鸡致病性研究[J]. 中国农业大学学报，2022，27（08）：131-139

[7] Sit THC，Sun W，Tse ACN，Brackman CJ，Cheng SMS，Tang AWY，Cheung JTL，Peiris M，Poon LLM. Novel Zoonotic Avian Influenza A(H3N8) Virus in Chicken，Hong Kong，China[J]. *Emerg Infect Dis*，2022，28（10）：2009-2015

[8] Yang R，Sun H，Gao F，Luo K，Huang Z，Tong Q，Song H，Han Q，Liu J，Lan Y，Qi J，Li H，Chen S，Xu M，Qiu J，Zeng G，Zhang X，Huang C，Pei R，Zhan Z，Ye B，Guo Y，Zhou Y，Ye W，Yao D，Ren M，Li B，Yang J，Wang Y，Pu J，Sun Y，Shi Y，Liu WJ，Ou X，Gao GF，Gao L，Liu J. Human infection of avian influenza A H3N8 virus and the viral origins: a descriptive study[J]. *Lancet Microbe*，2022，3（11）：e824-e834

[9] Wen F，Zhang X，Guo J，Liang Z，Cheng Q，Wang C，Yu H，Du Y，Huang S，Li J，Li Y. Emergence of H3N8 avian influenza viruses possessing tri-basic hemagglutinin cleavage sites in China[J]. *J Infect*，2022，85（4）：e112-e114

[10] Gall A，Hoffmann B，Harder T，Grund C，Beer M. Universal primer set for amplification

and sequencing of HA0 cleavage sites of all influenza A viruses[J]. *J Clin Microbiol*，2008，46（8）：2561-7

[11] Gao R，Zheng H，Liu K，Ji Z，Cai M，Gu M，Hu J，Liu X，Hu S，Wang X，Liu X. Genesis evolution and host species distribution of influenza A (H10N3) virus in China[J]. *J Infect*，2021，83（5）：607-635

[12] Spekreijse D，Bouma A，Koch G，Stegeman JA. Airborne transmission of a highly pathogenic avian influenza virus strain H5N1 between groups of chickens quantified in an experimental setting[J]. *Vet Microbiol*，2011，152（1-2）：88-95

[13] Luk GS，Leung CY，Sia SF，Choy KT，Zhou J, Ho CC，Cheung PP，Lee EF，Wai CK，Li PC，Ip SM，Poon LL，Lindsley WG，Peiris M，Yen HL. Transmission of H7N9 Influenza Viruses with a Polymorphism at PB2 Residue 627 in Chickens and Ferrets[J]. *J Virol*，2015，89（19）：9939-51

[14] Zhong L，Wang X, Li Q，Liu D，Chen H，Zhao M，Gu X，He L，Liu X，Gu M，Peng D，Liu X. Molecular mechanism of the airborne transmissibility of H9N2 avian influenza A viruses in chickens[J]. *J Virol*，2014，88（17）：9568-78

[15] Gaymard A，Le Briand N，Frobert E，Lina B, Escuret V. Functional balance between neuraminidase and haemagglutinin in influenza viruses[J]. *Clin Microbiol Infect*，2016，22（12）：975-983